

# Pregabaliinin ja morfiinin riippuvuuteen liittyviä yhteisvaikutuksia – käyttäytymistieteellisin hiirimallein

PIIPPO, OSSI  
LÄÄKETIETEEN YLIOPPILAS  
FARMAKOLOGIAN OSASTO

Helsinki 24.04.2020

Tutkielma

ossi.piippo@helsinki.fi

Ohjaaja : Elena Vashchinkina / Esa Korpi

HELSINGIN YLIOPISTO

Lääketieteellinen tiedekunta

## HELSINGIN YLIOPISTO – HELSINGFORS UNIVERSITET

|  |                               |   |  |
|--|-------------------------------|---|--|
| Tiedekunta/Osasto – Fakultet/Sektion – Faculty   |                               | Laitos – Institution – Department       |  |
| Lääketieteellinen tiedekunta   |                               | Farmakologian osasto                    |  |
| Tekijä – Författare – Author   |                               |   |  |
| Ossi Piippo  |                               |   |  |
| Työn nimi – Arbetets titel – Title   |                               |   |  |
| Pregabaliinin ja morfiinin riippuvuuteen liittyviä yhteisvaikutuksia – käyttäytymistieteellisin hiirimallein |                               |   |  |
| Oppiaine – Läroämne – Subject  |                               |   |  |
| Farmakologia, lääketieteellinen  |                               |   |  |
| Työn laji – Arbetets art – Level   | Aika – Datum – Month and year | Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages |  |
| Tutkielma  | 05.05.2020                    | 16 + 1                                  |  |

## Tiivistelmä – Referat – Abstract

Gabapentinoidi pregabaliini on ahdistuneisuuden, neuropaattisen kivun ja epilepsian hoidossa käytetty lääke, jolla voisi yhdistetyn analgeettisen ja anksiolyyttisen vaikutuksen vuoksi olla käyttöä opioidiriippuvuuden vieroitukseen tähtäävässä hoitoprotokollassa oireiden lievittämisessä. Sen nopea vaikutus ja vähäiset farmakokineettiset yhteisvaikutukset tekevät siitä kliinisesti helppokäyttöisen, mutta laajempaa kliinistä käyttöä on kuitenkin rajoittanut väärinkäytön mahdollisuus ja opiaatinkäyttäjien kuolemantapaukset, joissa pregabaliini on ollut usein mukana.

Tutkimme pregabaliinin ja morfiinin yhteisen käytön vaikutusta palkitsevuuteen, riippuvuuteen ja opioidivieroitusoireiden hoitoon hiirien käyttäytymismalleilla, joihin tutkielmassani keskityn. Lisäksi ryhmämme suoritti hiirillä neurofysiologisia kokeita neuroplastisiteetin tutkimiseksi, ja järjesti klinisen pilottikokeen pregabaliinin käytöstä heroiinin vieroitushoidossa. Tutkimme akuutin pregabaliininkäytön palkitsevuutta sekä pregabaliini-esilääkityksen vaikutusta akuutin morfiininkäytön palkitsevuuteen seuraamalla näiden aiheuttamia psykomotorisia vaikutuksia ja suonensisäistä itseannostelua. Tutkimme pregabaliini-esilääkityksen vaikutusta naloksonilla provosoituihin morfiinin vieroitusoireisiin. Lisäksi tutkimme aiemman kroonisen morfiinialtistuksen vaikutusta pregabaliinin palkitsevuuteen ehdollistetulla paikkapreferenssillä ja itseannostelulla.

Pregabaliini yksin ei aiheuttanut kiihtynyttä liikkumista tai pitänyt yllä itseannostelua, mikä viittaisi siihen että pregabaliini ei itsessään aiheuta palkitsevuutta, mutta esilääkitys sillä osittain esti morfiinia aiheuttamasta näitä. Esilääkitys pregabaliinilla vaimensi myös morfiinivieroitusoireita. Aiempi krooninen morfiinialtistus ei aiheuttanut pregabaliinin paikkaehdollistumista tai itseannostelua. Tulosten perusteella pregabaliinilla olisi potentiaalia opioidivieroitushoidossa käyttämiseen kontrolloidussa sairaalaympäristössä, mistä kliinisessä pilotissa saimmekin lupaavia alustavia tuloksia.

## Avainsanat – Nyckelord – Keywords

Morphine, pregabalin, withdrawal, detoxification, reward, behavioral research

## Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited

## Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information

|  |    |
|--|----|
| 1 Johdanto .....   | 1  |
| 2 Aineistot ja menetelmät .....  | 2  |
| 2.1 Eläimet .....  | 2  |
| 2.2 Lääkeaineet .....  | 2  |
| 2.3 Krooninen morfiiniprotokolla .....   | 3  |
| 2.4 Spontaani liikkuminen .....  | 4  |
| 2.5 Ehdollistettu paikkapreferenssi .....  | 4  |
| 2.6 Itseannostelu .....  | 5  |
| 2.7 Naloksonilla provosoidut vieroitusoireet .....   | 6  |
| 2.8 Tilastollinen analyysi .....   | 6  |
| 3 Tulokset .....   | 7  |
| 3.1 Esilääkitys pregabaliinilla vaimensi akuutin morfiininannostelun aiheuttamaa kiihtynyttä liikkumista, itseannostelua, ja opioidivieroitusoireita ..... | 7  |
| 3.2 Aiempi krooninen morfiinialtistus ei vaikuttanut pregabaliinin palkitsevuuteen .   | 9  |
| 4 Pohdinta .....   | 12 |
| Lähteet .....  | 14 |

## 1 Johdanto

Pregabaliini on laajalti käytetty gabapentinoideihin kuuluva lääkeaine, jota käytetään mm. epilepsian [1], neuropaattisen kivun [2] ja ahdistushäiriön [3] hoidossa. Sen vaikuttaa epäselektiivisenä aivot toiminnan madaltajana, ja vaikutus perustuu sen sitoutumiseen presynaptisten jännitysherkkien kalsiumkanavien  $\alpha 2\delta$ -alayksikön. Tämä vähentää kalsiumin pääsyä neuroneihin jonka seurauksena eksitatoristen välittäjäaineiden, kuten glutamaatin, noradrenaliinin, tai substanssi P:n, erityis laskee. [4]

Opioidiriippuvuus on monimutkainen krooninen sairaus, jonka vaikutus useisiin aivoalueisiin johtaa lukuisiin oppimista, käyttäytymistä ja ja kehoa koskeviin oireisiin [5]. Vieroitukseen tähtäävä hoitoprotokolla on monivaiheinen, ja vaatii usein alussa monilääkehoitoa vieroitusoireiden välttämiseksi [6]. Hyvälläkin hoidolla potilailla on usein huono komplianssi ja huomattavia vieroitukseen liittyviä oireita [7], ja usein päädytäänkin tyytymään haittoja vähentävään korvaushoitoon. Uudelle hoidolle, jolla vieroitusoireita saisi vähennettyä ja opioidiantagonistin aloittamista saataisiin aikaistettua, olisi siis selvää tarvetta [6]. Pregabaliinin on osoitettu annosriippuvaisesti vähentävän sekä naloksonilla provosoituja [8] että kliinisessä vieroituksessa ilmenneita opioidivieroitusoireita [9], mutta se ei estä morfiinitoleranssin kehittymistä [10]. Lisäksi se on kliinisesti varsin helppokäyttöistä, ilman huomattavia farmakokineettisiä tai -dynaamisia yhteisvaikutuksia [11]. On jopa raportoitu opioidien väärinkäyttäjien spontaanisti käyttävän pregabaliinia itsevieroituksessa [12].

Pregabaliinia pidettiin pitkään turvallisena vaihtoehtona esim. bentsodiatsepiineille ilman merkittävää väärinkäytön tai riippuvuuden riskiä [13], mutta on käynyt ilmi ettei asia ole aivan näin. Osalle potilaista sen on raportoitu aiheuttavan euforiaa ja johtavan väärinkäyttöön, erityisesti jos näillä on ollut opiaatinkäyttöä taustalla [14] [15]. Lisäksi kuolemantapaukset joissa on on pregabaliinin ja opioidien yhteiskäyttöä ovat olleet

nousussa [16]. Ei kuitenkaan ole näyttöä että yhteiskäyttö muuttaisi kummankaan lääkkeen, tai niiden päämetaboliittien, konsentraatiota aivoissa, eli kyse ei ole farmakineettinen yhteisvaikutus [17]. Tarkempaa tutkimusta pregabaliinin ja opioidien farmakodynaamisista yhteisvaikutuksista tai vaikutuksesta dopamiinivälitteiseen palkitsemisjärjestelmään ei ole tarjolla.

Ryhmämme tutki pregabaliinin vaikutusta dopamiinivälitteiseen palkitsemisjärjestelmään sekä akuutin että kroonisen morfiinialtistuksen yhteydessä. Käytimme hiirien käyttäytymistutkimuksen menetelmiä sekä neurofysiologisia kokeita neuroplastisiteetin tutkimiseksi. Lisäksi raportoimme tulokset satunnaistetusta sokkoutetusta kliinisestä pilottikokeilusta jossa tutkittiin pregabaliinin tehoa ja turvallisuutta opioidivieroituksessa käytettynä. Oma osuuteni projektissa liittyi hiirillä suoritettuun käyttäytymistutkimukseen, joten keskityn tutkielmassani näiden protokollien ja niistä saatujen tulosten kuvaamiseen. [18]

## 2 Aineistot ja menetelmät

### 2.1 Eläimet

Käyttäytymiskokeissa käytimme aikuisia 8-11 viikkoisia urospuolisia C57BL/6J hiiriä (Charles River Germany). Ne pidettiin kahden yksilön häkeissä 12-tunnin valo-pimeä kierrolla joissa ravintoa ja vettä oli vapaasti tarjolla. Lääkeaineiden annostelu ja käyttäytymiskokeet suoritettiin klo 08 ja 19 välisenä aikana.

### 2.2 Lääkeaineet

Käyttäytymiskokeissa käytetyt morfiinihydrokloridijauhe ja pregabaliini (Lyrica®, Pfizer, Yhdysvallat) hankittiin Yliopiston Apteekista (Helsinki, Suomi). Morfiini liuotettiin

fysiologiseen suolaliuokseen ja annosteltiin subkutaanisti 10 ml/kg tilavuuteen. Pregabaliini liuotettiin 0,5% metyyliiselluloosan ja fysiologisen suolaliuoksen sekoitukseen ja annosteltiin intraperitoneaalisesti 10 ml/kg tilavuuteen. Itseannostelussa pregabaliini (Tocris Bioscience, Iso-Britannia) liuotettiin fysiologiseen suolaliuokseen ja annosteltiin suonensisäisesti.

### 2.3 Krooninen morfiiniprotokolla

Kroonisen opioiditaustan malintamiseksi hiirille annosteltiin kasvavia annoksia morfiinia s.c. 16 tunnin välein 4 viikon ajan. Annostus oli 1. viikkona 10-20 mg/kg, 2. viikkona 20-30 mg/kg, 3. viikkona 30-40 mg/kg ja 4. viikkona 50-70 mg/kg. Alussa nostimme morfiiniannosta tasaisin väliajoin, mutta liian nopean annosnoston johdettua useamman enimmäiseen morfiiniryhmään kuuluvan hiiren menehtymiseen, siirryimme nostamaan annosta 10 mg/kg hiirien kehitettyä toleranssin aikaisempaan annokseen. Toleranssin kehittymistä mitattiin morfiiniannostelua seuraavan kiihtyneen liikkumisen vaimentumisena.

Viikon välein seurasimme myös morfiinin analgeettisen vaikutuksen vaimenemista kuumalevykipukokeella, jossa hiiret asetettiin +52 °C levyille (Harvard Apparatus, Iso-Britannia) ja mitattiin latenssi siihen, että ne liikuttivat käpäliään. Tämä toistettiin kahdesti perusarvon määrittämiseksi, jonka jälkeen hiirille annosteltiin morfiinia s.c. 10 mg/kg ja 30 minuutin kuluttua koe toistettiin kolmannen kerran. Vaikutus mitattiin kahden ensimmäisen ajan keskiarvon ja morfiinin annostelun jälkeisen ajan prosentuaalisena erona. Tämän ohella suunnittelimme käyttävämme myös vastaavaa korkeaan lämpötilaan perustuvaa hännänheilautuskoetta, mutta jo ensimmäisellä kerralla useampi hiiri sai vaurioita häntäänsä joten hylkäsimme tämän.

Ehdollistetun paikkapreferenssin kokeet suoritettiin viikon kuluttua viimeisestä morfiiniannoksesta ja itseannostelukokeet kolmen viikon kuluttua viimeisestä

morfiiniannoksesta. Kokeet suoritettiin kahdella toisistaan riippumattomalla erällä hiiriä.

## 2.4 Spontaani liikkuminen

Spontaania liikkumista mitattiin ja analysoitiin EthoVision videoseurantajärjestelmällä (Noldus, Alankomaat) 90 minuutin ajan 19x36-cm-mittaisissa läpinäkymättömissä muovilaatikoissa. Mittasimme kuljetun matkan perättäisissä 15 minuutin jaksoissa ja vertailimme niitä eri lääkeainannostelujen välillä. [19]

Muiden ohessa mainittujen koeprotokollien lisäksi annostelimme lääkeainenaiveille hiirille pregabaliinia i.p. 50-200 mg/kg ja 30 minuutin kuluttua morfiini 10 mg/kg s.c. jonka jälkeen niiden liikkumista alettiin välittömästi seuraamaan edellämainitun mukaisesti.

## 2.5 Ehdollistettu paikkapreferenssi

Käytimme puolueellista ehdollistettua paikkapreferenssi protokollaa, "biased conditioned place preference", joka koostui kolmesta vaiheesta: esikokeesta, ehdollistamisesta, sekä ehdollistamisen jälkeisestä preferenssikokeesta. Koelaitteisto oli läpinäkymätön muovilaatikko (19 x 36 cm) johon asetettiin kahta eri pohjamateriaalia, muovisäleikköä 2 cm palkeilla tai metallilaatta 1 cm reiillä. [20]

Esikokeessa laatikkoon asetettiin saman kokoiset puolikkaat kumpaakin materiaalia ja laitteistolle naiivien hiirien annettiin vapaasti liikkua laatikossa 15 minuutin ajan. Kummallakin materiaalilla vietetty aika mitattiin ja suositumpi kirjattiin ylös. Ehdollistamisessa morfiinialtistetuille hiirille annosteltiin aamusessiossa fysiologista suolaliuosta i.p. ja ne asetettiin välittömästi 30 minuutiksi laatikkoon jonka pohja oli kokonaan suositumpaa materiaalia. Iltasessiossa, vähintään 6 tunnin kuluttua, hiirille annosteltiin 50 tai 100 mg/kg pregabaliinia i.p. ja ne asetettiin 30 minuutiksi epäsuositulle materiaalille. Laatikot ja pohjamateriaalit puhdistettiin 2% vetyperoksidiliuoksella jokaisen hiiren jälkeen jotta vältettäisiin vieraiden eläinten



hajujen hiirille aiheuttamaa stressiä. Ehdollistaminen toistettiin neljänä perättäisenä päivänä. Preferenssikoe suoritettiin 48 tuntia viimeisen ehdollistamissession jälkeen. Pohja jaettiin saman kokoisiin osiin kumpaakin materiaalia, joilla hiiret saivat liikkua vapaasti 15 minuutin ajan. Niiden viettämä aika kummallakin materiaalilla mitattiin.

Hiirien liikkumista ja sijaintia mitattiin ja analysoitiin EthoVision seurantajärjestelmällä (Noldus, Alankomaat). Laskimme epäsuositulla pohjamateriaalilla vietetyn ajan eron esikokeen ja preferenssikokeen välillä, aikamuutoksen, ehdollistumisen mittaamiseksi.

## 2.6 Itseannostelu

Itseannostelulaitteisto (Ritec, Venäjä), koostui neljästä samanlaisesta läpinäkymättömästä koelokerosta (8x8x8 cm) joissa oli etuseinässä reikä kuonontyönnölle (1,5 cm läpimitta) ja infrapunasensori sekä takaseinässä rako (5mm) josta häntä pujotettiin ja fiksoitiin. Hiiret laitettiin omiin lokeroihinsa jotka peitettiin läpinäkymättömällä kannella kokeen ajaksi. Koe suoritettiin kahdelle parille hiiriä kerrallaan, aktiivi- ja kontrolliyksilölle. [19] Tämä tehtiin aiemmin morfiinialtistetuille hiirille, viikon kuluttua ehdollistetun paikkapreferenssin kokeesta.

Parit valittiin karkeasti saman kuonontyöntötiheyden perusteella, joka mitattiin 10 minuutin esikokeessa. Kahden tunnin sisällä esikokeesta pariksi valitut hiiret asetettiin vierekkäisiin koelokeroihin ja häntälaskimoon asetettiin katetri (27 ga) joka oli yhdistetty 1ml ruiskupumppuihin. Kahdenkymmenen minuutin kokeen aikana aktiivi-hiiren kuonontyönnöt laskettiin infrapunasensorilla, ja niistä seurasi annos (1,7 µl, kesto 1 s) pregabaliiniliuosta (5 mg/ml) molempiin hiiriin. Myös kontrollihiiren kuonontyönnöt laskettiin, mutta näistä ei seurannut lääkeannosta. Näistä laskettiin vahvistamisvaikutus, R-faktori, laskemalla erotus aktiivi- ja kontrollihiirien kuonontyöntöjen suhteista otetuista logaritmeista kokeen ja esikokeen välillä.  $R = \log(A_k/P_k) - \log(A_{ek}/P_{ek})$  jossa  $A_k$  on aktiivihiiren kuonontyönnöt kokeen aikana,  $P_k$  kontrollihiiren kuonontyönnöt kokeen

aikana,  $A_{ek}$  aktiivihiiiren kuonontyönnöt esikokeen aikana ja  $P_{ek}$  kontrollihiiiren kuonontyönnöt esikokeen aikana [21].

Koe suoritettiin myös lääkeainenaiveilla hiirillä, jossa hiiret esilääkittiin pregabaliinilla (50 mg/kg,i.p.) jonka jälkeen 30 minuutin kuluttua ne saivat itseannostella morfiinia (1 mg/ml), pregabaliinia (5 mg/ml) tai fysiologista suolaliuosta.

## 2.7 Naloksonilla provosoidut vieroitusoireet

Hiirille annettiin nousevin annoksin morfiinia, 8-45 mg/kg s.c viiden päivän ajan, kahdesti päivässä (klo 09 ja 19) [ 22]. 90 minuuttia viimeisen morfiiniannoksen jälkeen hiiret saivat esilääkityksenä pregabaliinia 50 mg/kg i.p.. 30 minuuttia tämän jälkeen niille annettiin naloksonia 3 mg/kg s.c., ja ne laitettiin läpinäkyviin akryylisylintereihin (30 x 20 cm) seurattavaksi. Laskimme niitten hypyt (neljä tassua irti maasta), takajaloille nousemiset sekä raajavapinat 30 minuutin ajan naloksone-injektiosta. Tuloksia mitattiin ja analysoitiin Ethograph ohjelmistolla (Ethograph, Venäjä).

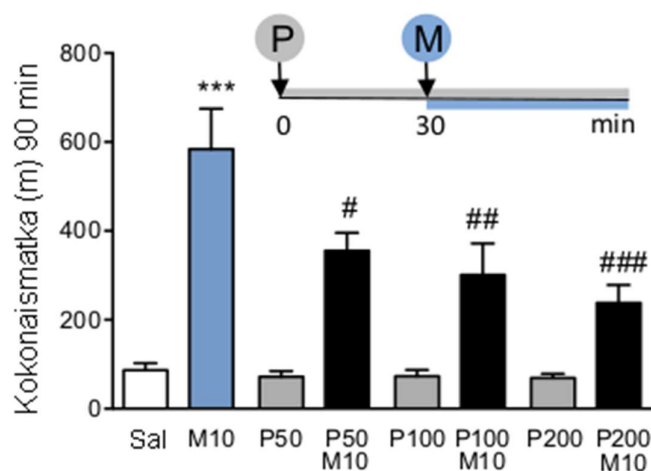
## 2.8 Tilastollinen analyysi

Dataa analysoitiin IBM SPSS Statistics 21 (IBM, Yhdysvallat) sekä GraphPad Prism 6 (GraphPad, Yhdysvallat) ohjelmistoilla. Tulokset esitetään keskiarvoina ja keskivirheenä kumpaankin suuntaan. Tilastoista laskettiin yksi- tai kaksisuuntainen varianssianalyysi "ANOVA", jonka jälkeen tehtiin Bonferronin testi tai Studentin t-testi ( $P < 0.05$ ).

### 3 Tulokset

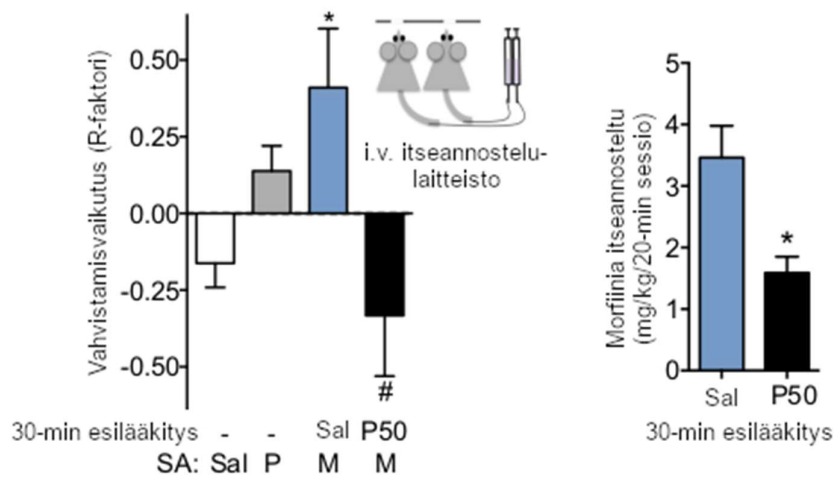
#### 3.1 Esilääkitys pregabaliinilla vaimensi akuutin morfiininannostelun aiheuttamaa kiihtynyttä liikkumista, itseannostelua, ja opioidivieroitusoireita

Lääkeainenaaiiveilla hiirillä esilääkitys ei-sedatiivisilla annoksilla pregabaliinia (50-200 mg/kg i.p., n=6-16; P50, P100, P200) 30 minuuttia ennen morfiinin annostelua vähensi annosriippuvaisesti morfiinin aiheuttamaa kiihtynyttä liikkumista (esilääkityksen vaikutus:  $F_{3,57} = 5.7$ ,  $p < 0.01$ ). Morfiini (10 mg/kg s.c., n=13; M10) (Kuva 1) (kappaleen kuvat mukautettu ryhmämme varsinaisesta artikkelista [18]) aiheutti selkeää kiihtynyttä liikkumista kontrolliin verrattuna ( $***P < 0,05$ ). Pelkkä pregabaliini annoksilla 50-200 mg ei vaikuttanut liikkumiseen kontrolliin verrattuna ( $F_{3,22} = 0.3$ ,  $p = 0.8$ ).



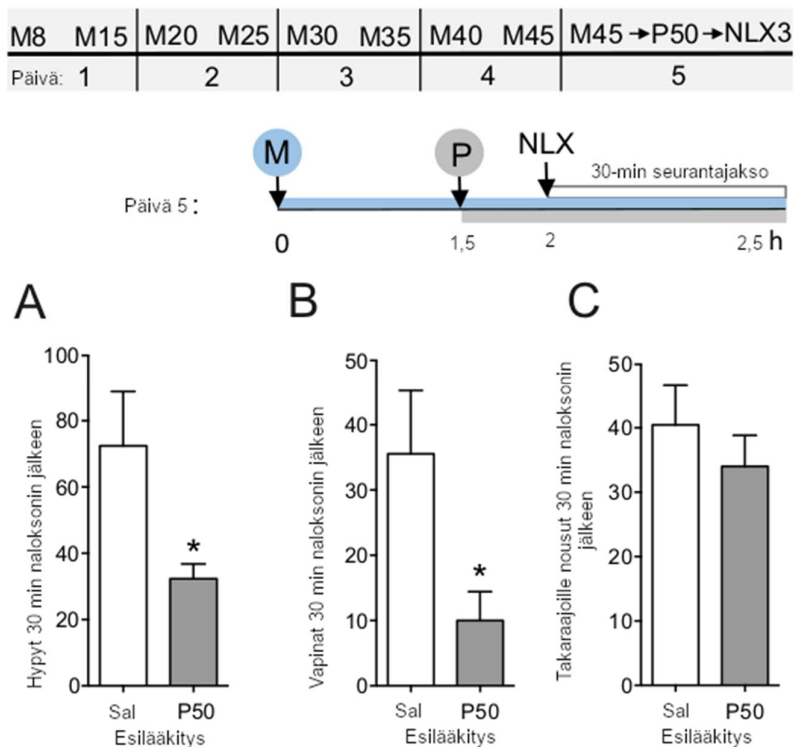
Kuva 1 Pregabaliini-esilääkityksen vaikutus morfiinin aiheuttamaan kiihtyneeseen liikkumiseen. Yllä: kokeen aikataulu. Alla: kokonaisliikkuminen 90 min seurantajakson aikana. Palkit ovat keskiarvot + keskivirhe;  $***P < 0,05$ ; Bonferroni  $\#P < 0,05$ ,  $##P < 0,01$ ,  $###P < 0,001$ ; Sal = suolaliuoskontrolli, M10 = morfiini 10 mg/kg s.c., Px = pregabaliini x mg/kg i.p.

Lääkeainenaaiiveilla hiirillä esilääkitys pregabaliinilla (50mg/kg i.p.) selkeästi vähensi morfiinin suonensisäisesti itseannosteltua 20 minuutin sessiossa, niin vahvistamisvaikutusta ( $F_{3,50} = 5,2$ ,  $P < 0,01$ , Bonferroni  $P < 0,05$  salinikontrolliin verrattuna,  $P < 0,05$  pelkkään morfiiniin verrattuna, n = 6-26 hiiriparia) kuin morfiinin kokonaiskulutusta ( $P < 0,05$ , t-testi) tarkastellen (Kuva 2). Pelkkä pregabaliinia hiiret eivät spontaanisti itseannostelleet.



Kuva 2 Suonensisäinen itseannostelu lääkeainenaiveilla hiirillä. Vasemmalla: Vahvistamisvaikutus eri lääkeaineiden ja esilääkitysten yhdistelmillä. Bonferroni  $*P < 0,05$ ,  $\#P < 0,05$ . Oikealla: Session aikana itseannostellun morfiinin kokonaismäärä. Palkit ovat keskiarvot + keskivirhe;  $*P < 0,05$ ; M = morfiini, P = pregabaliini P50 = pregabaliini 50 mg/kg i.p.

Pregabaliinin vaikutusta opioidivieroitusoireisiin tutkittaessa subkroonisesti morfiinialtistetut (8-45 mg/kg s.c.,  $n = 9 + 9$  kontrollia) hiiret esilääkittiin pregabaliinilla (50 mg/kg i.p.) 30 minuuttia ennen vieroitusoireiden provosoimista naloksonilla (3 mg/kg i.p.) (Kuva 3). Esilääkitys annettiin 90 minuuttia viimeisen morfiiniannoksen jälkeen. Pregabaliinilla esilääkitseminen vähensi vieroitusoireista merkittävästi hyppyjä ja vapinoita, mutta ei takaraajoille nousua ( $P < 0,05$ , t-testi).



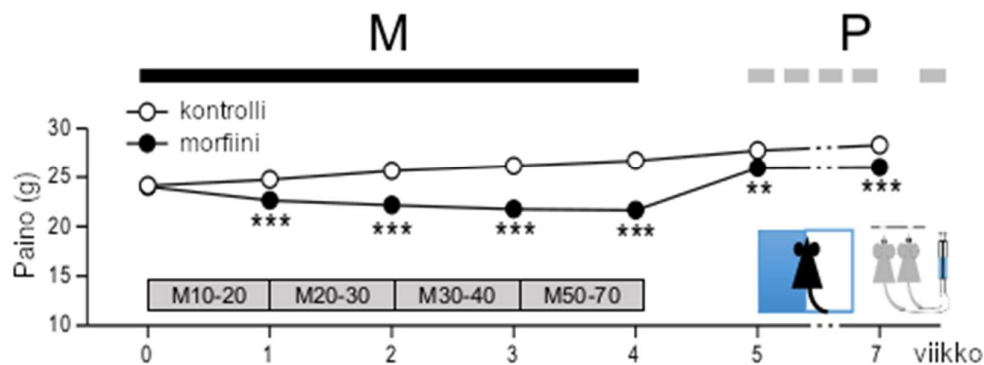
Kuva 3 Pregabaliinin vaikutus naloksonilla provosoituihin vieroitusoireisiin morfiiniriippuvaisilla hiirillä. Ylhäällä: Lääkeaineiden annostelun aikataulu. Alhaalla: Pregabaliini-esilääkityksen vaikutus naloksonilla provosoituihin hyppyihin (A), vapinoihin (B), ja takaraajoille nousuihin (C). \* $P < 0,05$ ; Palkit ovat keskiarvot + keskivirhe; Mx = morfiini x mg/kg s.c., NLX = naloksoni, Sal = suolaliuoskontrolli, P50 = pregabaliini 50 mg/kg i.p.

Nämä tulokset viittaavat siihen, että pregabaliini ei itsessään aiheuta palkitsevuutta, mutta sillä esilääkitseminen vähentää morfiinin itseannostelua sekä opioidivieroitusoireita.

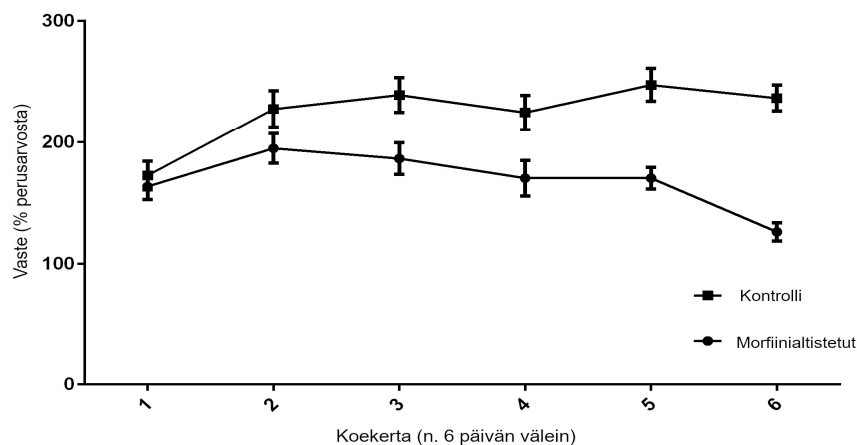
### 3.2 Aiempi krooninen morfiinialtistus ei vaikuttanut pregabaliinin palkitsevuuteen

Kuten johdannossa mainittiin, olimme kiinnostuneita kroonisen opioidikäytön yhteydestä pregabaliinin palkitsevuuteen. Tämän tutkimiseksi hiiret altistettiin kasvaville morfiiniannoksille neljän viikon ajan (10-70 mg/kg s.c.), viikko tämän jälkeen tutkittiin paikkaehdollistumista pregabaliinilla, josta vielä viikko eteenpäin tutkittiin pregabaliinin akuuttia itseannostelua (kuva 4). Morfiini annosteltiin 16 tunnin välein. Morfiinialtistettujen hiiren paino putosi (kuva 4, t-testi,  $p < 0,01$ ), morfiinin

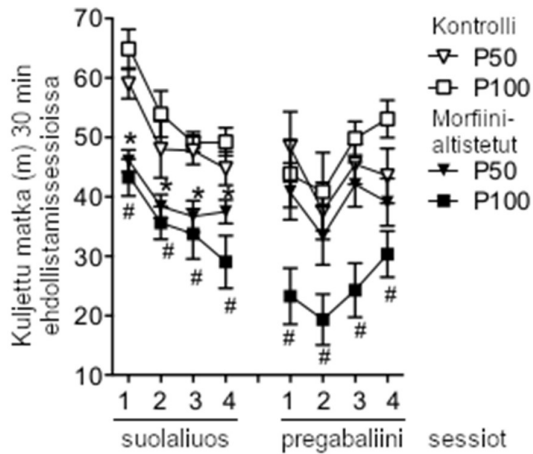
analgeettinen vaikutus heikkeni (kuva 5), ja niillä esiintyi vähemmän spontaania liikkumista ehdollistamisen aamuisissa suolaliuosseissa ( $F_{1,39} = 44,1$   $P < 0,001$ ) sekä selkeää sedaatiota suuren annoksen (100 mg/kg) pregabaliinisessioissa (P100: altistettut vs. kontrolli  $P < 0,01$ ) (kuva 6). Ehdollistetun paikkapreferenssin päätepisteenä käytettiin eroa vähemmän suositulla pohjamateriaalilla vietetyssä ajassa ennen ja jälkeen ehdollistamista. Tässä aikamuutoksessa ei kuitenkaan ollut tilastollisesti merkittävää eroa morfiinialtistettujen ( $n = 6-13$ ) ja kontrolliryhmän ( $n = 12$ ) hiirien välillä (morfiinialtistuksen vaikutus  $F_{1,39} = 0,01$ ,  $P = 0,9$ , pregabaliiniannoksen vaikutus  $F_{1,39} = 1,6$ ,  $P = 0,2$ ) (kuva 7).



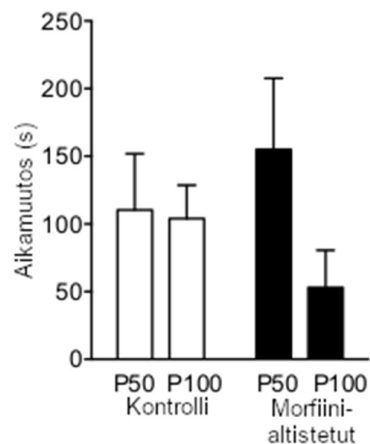
Kuva 4 Kroonisen morfiinialtistuksen aikataulu sekä siihen liittyvä painonlasku. Ehdollistettua paikkapreferenssiä tutkittiin viikko viimeisen morfiiniannostelun jälkeen. Itseannostelua tutkittiin viikko paikkapreferenssin jälkeen. \*\* $P < 0,01$ , \*\*\* $P < 0,001$ ; M = morfiini, P = pregabaliini, Mx = morfiini x mg/kg s.c.



Kuva 5 Morfiinin analgeettinen teho kuumalevykokeilla mitattuna. Hakaset keskivirhe.

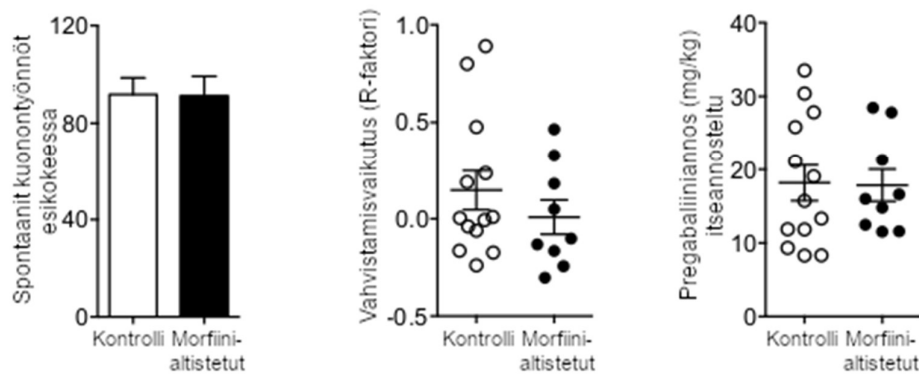


Kuva 6 Spontaani liikkuminen ehdollistamissessioiden aikana. \*P < 0,01, #P < 0,01; Px = pregabaliini x mg/kg i.p.



Kuva 7 Ehdollistetun paikkapreferenssin tulokset vähemmän suositulla pohjamateriaalilla vietetyn ajan erona ennen ja jälkeen ehdollistamista. Palkit ovat keskiarvot + keskivirhe; Px = pregabaliini x mg/kg

Viikko paikkaehdollistamisen jälkeen tutkitumme pregabaliinin suonensisäistä itseannostelua. Morfiinialtistetuilla hiirillä (n = 25) oli kontrolliryhmään (n = 17) verrattuna vastaava määrä spontaaneja kuonontyöntöjä esikokeen aikana (t-testi, P > 0,05), saman suuruinen vahvistamisvaikutus (t-testi, P > 0,05), sekä saman suuruinen pregabaliinin kokonaiskulutus (t-testi, P > 0,05) (kuva 8).



Kuva 8 Pregabaliinin suonensisäinen itseannostelu morfiinialtistetuilla hiirillä. Vasen: Spontaanit kuonontyönnöt esikokeessa. Keskellä: Vahvistamisvaikutus. Oikealla: Pregabaliinin kokonaiskulutus. Viivat ja hakaset = keskiarvot + keskivirhe

Aiempi morfiinialtistus ei siis vaikuttanut merkittävästi ehdollistettuun paikkapreferenssiin tai pregabaliinin itseannosteluun. Morfiinialteistettut hiiret olivat herkempiä pregabaliinin aiheuttamalle sedaatiolle, mutta selkeää palkitsevuutta ei pregabaliinilla esiintynyt niin morfiinialtistetuissa kuin kontorolliryhmässäkään.

#### 4 Pohdinta

Pregabaliinin turvallisuus, erityisesti lääke- ja huumausaineiden väärinkäyttäjillä, on vielä aktiivisen akateemisen keskustelun kohteena, josta valitettavan suuri osa pohjautuu yksittäisiin tapauksertomuksiin ilman yleistettävää tieteellistä tutkimusta. Koitimme tutkimuksessamme vastata kysymyksiin liittyen pregabaliinin ja opioidien yhteisvaikutuksiin sekä mahdolliseen hoito- ja/tai väärinkäyttöön. Osaan näistä löytyi vastaus käyttäytymiskokeista joita käsittelin tutkielmassa, osaan muissa projektimme osa-alueissa, ja osa jäi avoimeksi odottamaan mahdollista jatkotutkimusta.



Tuloksemme viittaavat siihen että esilääkitys pregabaliinilla vähentää morfiinin palkitsevuutta, mikä käy ilmi sekä alentuneesta kiihtyneestä liikkumisesta että alentuneesta morfiinin itseannostelusta. Tämä vaikutus näyttää vastaavalta kuin esilääkitys bentsodiatsepiinilla [23], mutta pregabaliinin annos on matalampi kuin sedaatiota aiheuttava. Lisäksi pregabaliini selkeästi vähensi opioidivieroitusoireita hiirissä, minkä kliininen pilottitutkimuksemme vahvisti myös ihmisissä [18]. Pelkkä pregabaliini ei vaikuttanut aiheuttavan palkitsevuutta ja sen itseannostelun puute viittaisi matalaan väärinkäytön riskiin. Vahvakaan opioidikäyttöhistoria ei muuttanut tätä, minkä perusteella pregabaliini voisi hyvin sopia vieroitushoidossa käytettäväksi. Toisaalta elektrofysiologisissa kokeissa matalan morfiiniannoksen jälkeen annettu pregabaliini toimi palkitsevan vaikutuksen vahvistajana [18], eli aineiden yhteisvaikutus on riippuvainen annostelujärjestyksestä ja on oletettavasti monen mekanismin yhteisvaikutus. Tämä viittaa myös siihen että pregabaliinin käyttö vieroitushoidossa tulisi suorittaa kontrolloidussa kliinisessä ympäristössä ja itsehoito voi altistaa väärinkäytölle .

Mahdollisia jatkotutkimuksen kohteita olisi pregabaliinin palkitsevuus kroonisella opiaatinkäyttäjällä kun käyttö vielä jatkuu. Vaikka nykyinen tutkimuksemme mallinsikin aiempaa kroonista opiaatinkäyttöä, mahdollinen vieroitushoito toteutettaisiin potilaille jotka ovat aktiivisia käyttäjiä. Luonnollisesti myös laajempi kliininen tutkimus pregabaliinin käytöstä ihmisten vieroitushoitoon olisi tervetullut. Potentiaalinen hyöty tehokkaammasta vieroitushoidosta olisi suurin terveydenhuoltojärjestelmässä jossa haittoja vähentävää korvaushoitoa ei ole laajalti tarjolla.

## Lähteet

- 1 French, J. A., A. R. Kugler, J. L. Robbins, L. E. Knapp and E. A. Garofalo (2003). "Dose-response trial of pregabalin adjunctive therapy in patients with partial seizures." *Neurology* 60(10): 1631-1637.
- 2 Finnerup NB, Attal N, Haroutounian S, McNicol E, Baron R, Dworkin RH, et al. (2015): Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Neurology*. 14:162-173.
- 3 Bandelow B, Zohar J, Hollander E, Kasper S, Möller HJ; WFSBP Task Force on Treatment Guidelines for Anxiety, Obsessive-Compulsive and Post-Traumatic Stress Disorders, Zohar J, Hollander E, Kasper S, Möller HJ, Bandelow B, Allgulander C, Ayuso-Gutierrez J, Baldwin DS, Buenvicinus R, Cassano G, Fineberg N, Gabriels L, Hindmarch I, Kaiya H, Klein DF, Lader M, Lecrubier Y, Lépine JP, Liebowitz MR, Lopez-Ibor JJ, Marazziti D, Miguel EC, Oh KS, Preter M, Rupprecht R, Sato M, Starcevic V, Stein DJ, van Ameringen M, Vega J. (2008) World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) guidelines for the pharmacological treatment of anxiety disorders, obsessive-compulsive disorder and posttraumatic stress disorder. *World J Biol Psychiatry*. 2008;9(4):248-312.
- 4 Taylor CP, Angelotti T, Fauman E (2007): Pharmacology and mechanism of action of pregabalin: the calcium channel alpha2-delta (alpha2-delta) subunit as a target for antiepileptic drug discovery. *Epilepsy Res*. 73:137-150.
- 5 Koob GF, Volkow ND (2016): Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis. *Lancet Psychiatry*. 3:760-773.
- 6 Sigmon SC, Bisaga A, Nunes EV, O'Connor PG, Kosten T, Woody G (2012): Opioid detoxification and naltrexone induction strategies: recommendations for clinical practice. *The American journal of drug and alcohol abuse*. 38:187-199.
- 7 Collins ED, Kleber HD, Whittington RA, Heitler NE (2005): Anesthesia-assisted vs buprenorphine- or clonidine-assisted heroin detoxification and naltrexone induction: a randomized trial. *JAMA*. 294:903-913.
- 8 Hasanein P, Shakeri S (2014): Pregabalin role in inhibition of morphine

- analgesic tolerance and physical dependency in rats. *Eur J Pharmacol.* 742:113-117.
- 9 Kammerer N, Lemenager T, Grosshans M, Kiefer F, Hermann D (2012): [Pregabalin for the reduction of opiate withdrawal symptoms]. *Psychiatr Prax.* 39:351-352.
  - 10 Jokinen V, Lilius TO, Laitila J, Niemi M, Rauhala PV, Kalso EA (2015): Pregabalin enhances the antinociceptive effect of oxycodone and morphine in thermal models of nociception in the rat without any pharmacokinetic interactions. *Eur J Pain.*
  - 11 Buoli M, Caldiroli A, Serati M (2017): Pharmacokinetic evaluation of pregabalin for the treatment of generalized anxiety disorder. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 1-9.
  - 12 Wilens T, Zulauf C, Ryland D, Carrellas N, Catalina-Wellington I (2015): Prescription medication misuse among opioid dependent patients seeking inpatient detoxification. *The American journal on addictions / American Academy of Psychiatrists in Alcoholism and Addictions.* 24:173-177.
  - 13 Drug Enforcement Administration DoJ (2005): Schedules of controlled substances: placement of pregabalin into schedule V. Final rule. *Fed Regist.* 70:43633-43635.
  - 14 Filipetto, F. A., C. P. Zipp and J. S. Coren (2010). "Potential for Pregabalin Abuse or Diversion After Past Drug-Seeking Behavior." *JAOA: Journal of the American Osteopathic Association* 110(10): 605-607.
  - 15 Grosshans, M., T. Lemenager, C. Vollmert, N. Kaemmerer, R. Schreiner, J. Mutschler, X. Wagner, F. Kiefer and D. Hermann (2013). "Pregabalin abuse among opiate addicted patients." *European Journal of Clinical Pharmacology* 69(12): 2021-2025.
  - 16 Hakkinen M, Vuori E, Kalso E, Gergov M, Ojanpera I (2014): Profiles of pregabalin and gabapentin abuse by postmortem toxicology. *Forensic Sci Int.* 241:1-6.
  - 17 Jokinen V, Lilius TO, Laitila J, Niemi M, Rauhala PV, Kalso EA (2015): Pregabalin enhances the antinociceptive effect of oxycodone and morphine

in thermal models of nociception in the rat without any pharmacokinetic interactions. *Eur J Pain*.

- 18 Vashchinkina E, Piippo O, Vekovischeva O, Krupitsky E, Ilyuk R, Neznanov N2, Kazankov K, Zaplatkin I, Korpi ER. (2018): Addiction-related interactions of pregabalin with morphine in mice and humans: reinforcing and inhibiting effects. *Addict Biol*. 2018 May;23(3):945-958.
- 19 Vashchinkina E, Panhelainen A, Vekovischeva OY, Aitta-aho T, Ebert B, Ator NA, et al. (2012): GABA site agonist gaboxadol induces addiction-predicting persistent changes in ventral tegmental area dopamine neurons but is not rewarding in mice or baboons. *J Neurosci*. 32:5310-5320.
- 20 Vekovischeva OY, Semenova SG, Verbitskaya EV, Zvartau EE (2004): Effects of morphine and cocaine in mice with stable high aggressive and nonaggressive behavioral strategy. *Pharmacol Biochem Behav*. 77:235-243.
- 21 Kuzmin AV, Patkina NA, Zvartau EE (1994): Analgesic and reinforcing effects of morphine in mice. Influence of Bay K-8644 and nimodipine. *Brain Res*. 652:1-8.
- 22 Suzuki T, Tsuda M, Narita M, Funada M, Mizoguchi H, Misawa M (1996): Diazepam pretreatment suppresses morphine withdrawal signs in the mouse. *Life Sci*. 58:349-357.
- 23 Panhelainen AE, Vekovischeva OY, Aitta-Aho T, Rasanen I, Ojanpera I, Korpi ER (2011): Diazepam-induced neuronal plasticity attenuates locomotor responses to morphine and amphetamine challenges in mice. *Neuroscience*. 192:312-321.